

## Patentansprüche

### 5 1. Ein Protein,

- 10
- a) das die Fähigkeit aufweist, spezifisch an die ED<sub>b</sub>-Fibronectin-Domäne zu binden;
  - b) das spezifisch in Endothelzellen exprimiert oder aktiviert ist;
  - c) das spezifisch in stromalen Zellen eines Tumors exprimiert oder aktiviert ist;
  - d) das spezifisch in Tumorzellen exprimiert oder aktiviert ist;
  - e) dessen Bindung an die ED<sub>b</sub>-Fibronectin-Domäne durch ein Polypeptid inhibiert wird; und
  - 15 f) das ein apparentes Molekulargewicht von 120 – 130 kDa für die leichte Kette und 150 – 160 kDa für die schwere Kette, ermittelt durch SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese, aufweist.

### 2. Ein Protein, gemäß Anspruch 1,

- 20
- a) das die Fähigkeit aufweist, spezifisch an die ED<sub>b</sub>-Fibronectin-Domäne zu binden, wobei die Bindungsregion durch mindestens eine Sequenz charakterisiert ist, die ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ ID NO:1 - 3 umfaßt;

- b) das spezifisch in Endothelzellen exprimiert oder aktiviert ist;
- c) das spezifisch in stromalen Zellen eines Tumors exprimiert oder aktiviert ist;
- d) das spezifisch in Tumorzellen exprimiert oder aktiviert ist;
- 5 e) dessen Bindung an die ED<sub>b</sub>-Fibronectin-Domäne durch ein Polypeptid inhibiert wird, das eine Sequenz umfaßt, die ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ ID NO:1 - 3 umfaßt; und
- f) das ein apparentes Molekulargewicht von 120 – 130 kDa für die leichte Kette und 150 – 160 kDa für die schwere Kette, ermittelt durch SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese, aufweist.

3. Ein Protein, gemäß den Ansprüchen 1 bis 2,

- a) das die Fähigkeit aufweist, spezifisch an die ED<sub>b</sub>-Fibronectin-Domäne zu binden, und das die  $\alpha 2\beta 1$ -Kette des Integrins umfaßt;
- b) das spezifisch in Endothelzellen exprimiert oder aktiviert ist;
- 15 c) das spezifisch in stromalen Zellen eines Tumors exprimiert oder aktiviert ist;
- d) das spezifisch in Tumorzellen exprimiert oder aktiviert ist;
- e) dessen Bindung an die ED<sub>b</sub>-Fibronectin-Domäne durch ein Polypeptid inhibiert wird, und das die  $\alpha$ -Kette des Integrins umfaßt; und

f) das ein apparentes Molekulargewicht von 120 – 130 kDa für die leichte Kette und 150 – 160 kDa für die schwere Kette, ermittelt durch SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese, aufweist.

4. Protein gemäß den Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Endothelzellen proliferierende Endothelzellen sind.

5. Protein, dessen spezifische Bindung an die ED<sub>b</sub>-Fibronektin-Domäne die Adhäsion von Endothelzellen, Tumor-Stroma-Zellen und Tumorzellen vermittelt.

6. Protein, dessen spezifische Bindung an die ED<sub>b</sub>-Fibronektin-Domäne die Adhäsion von Endothelzellen, Tumor-Stroma-Zellen und Tumorzellen vermittelt, wobei die Bindungsregion durch mindestens eine Sequenz charakterisiert ist, die ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ ID NO:1 - 3 umfaßt.

7. Protein gemäß Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß Die Bindungsregion die  $\alpha 2\beta 1$ -Kette des Integrins umfaßt.

8. Protein, dessen spezifische Bindung an die ED<sub>b</sub>-Fibronektin-Domäne die Proliferation von Endothelzellen induziert.

9. Protein, dessen spezifische Bindung an die ED<sub>b</sub>-Fibronektin-Domäne die Proliferation von Endothelzellen induziert, wobei die Bindungsregion durch mindestens eine Sequenz charakterisiert ist, die ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ ID NO:1 - 3 umfaßt.

10. Protein gemäß Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß die Bindungsregion die  $\alpha 2\beta 1$ -Kette des Integrins umfaßt.

11. Protein, dessen spezifische Bindung an die ED<sub>b</sub>-Fibronektin-Domäne die Proliferation, Migration und Differenzierung von Endothelzellen in eine Collagenmatrix induziert.

12. Protein, dessen spezifische Bindung an die ED<sub>b</sub>-Fibronectin-Domäne die Proliferation, Migration und Differenzierung von Endothelzellen in eine Collagenmatrix induziert, wobei die Bindungsregion durch mindestens eine Sequenz charakterisiert ist, die ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ ID NO:1 - 3 umfaßt;

13. Protein gemäß Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß die Bindungsregion die  $\alpha 2\beta 1$ -Kette des Integrins umfaßt.

14. Protein, das an die ED<sub>b</sub>-Fibronectin-Domäne bindet und spezifische Signaltransduktionswege induziert, wobei mindestens ein Gen induziert wird, das für ein Protein codiert, das ausgewählt ist aus der Gruppe, die

- Fokale Adhäsionskinase,
- CD6-Ligand (ALCAM),
- die  $\alpha$ -Kette des Vitronectin-Rezeptors,
- die integriert alpha 8 Untereinheit und
- einen/den Vorläufer für Follistatin-verwandtes Protein umfaßt.

15. Protein, das an die ED<sub>b</sub>-Fibronectin-Domäne bindet und spezifische Signaltransduktionswege induziert, wobei mindestens ein Gen induziert wird, das für ein Protein codiert, das ausgewählt ist aus der Gruppe, die

- Fokale Adhäsionskinase,
- CD6-Ligand (ALCAM),
- die  $\alpha$ -Kette des Vitronectin-Rezeptors,
- die integriert alpha 8 Untereinheit und
- einen/den Vorläufer für Follistatin-verwandtes Protein umfaßt,

und wobei die Bindungsregion durch mindestens eine Sequenz charakterisiert ist, die ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ ID NO:1 - 3 umfaßt.

16. Protein gemäß Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, daß die Bindungsregion die  $\alpha 2\beta 1$ -Kette des Integrins umfaßt.
17. Antikörper, der in der Lage ist, an ein Protein nach einem der Ansprüche 1-10 zu binden.
18. Antikörper, der in der Lage ist, an ein Protein zu binden, das eine Aminosäuresequenz umfaßt, die aus der Gruppe ausgewählt ist, die SEQ ID NO:1 - 4 umfaßt.
19. Antikörper nach einem der Ansprüche 17 - 18, der in der Lage ist, Effekte zu inhibieren, die für die ED<sub>b</sub>-Fibronektin-Domäne spezifisch sind.
20. Antikörper nach einem der Ansprüche 17 - 18, wobei die Bindung und Inhibierung in vitro und/oder in vivo erfolgt.
21. Antikörper, nach einem der Ansprüche 17 – 20, dadurch gekennzeichnet, daß er monoklonal oder rekombinant ist.
22. Antikörper, nach einem der Ansprüche 17 – 21, dadurch gekennzeichnet, daß er ein scFv-Fragment ist.
23. Zelle, die ein Protein nach einem der Ansprüche 1 - 10 exprimiert.
24. Zelle, die einen Antikörper nach einem der Ansprüche 17 – 22 exprimiert.
25. Phage, der einen Antikörper nach einem der Ansprüche 17 – 22 exprimiert.
26. Verfahren zum Screenen auf Verbindungen, die an einen Rezeptor der ED<sub>b</sub>-Fibronektin-Domäne binden, wobei das Verfahren umfaßt:  
  
Vergleich einer Antwort von Zellen in Anwesenheit von einer oder mehrerer dieser Verbindungen mit der Kontrollantwort besagter Zellen in Abwesenheit dieser Verbindungen, wobei die Zellen

ein Protein nach einem der Ansprüche 1 – 10 exprimieren oder

eine Nukleinsäure, die für dieses Protein codiert, umfassen, und

5

wobei die Antwort bzw. die Kontrollantwort durch einen Rezeptor der ED<sub>b</sub>-Fibronectin-Domäne vermittelt wird.

10

27. Verfahren nach Anspruch 26, wobei die Antwort bzw. die Kontrollantwort das Anhaften der Zellen an Oberflächen umfaßt, die mit der ED<sub>b</sub> - Fibronectin-Domäne oder Teilen davon beschichtet sind.

15

28. Verfahren nach einem der Ansprüche 26 – 27, dadurch gekennzeichnet, daß eine Bindungsregion der ED<sub>b</sub> - Fibronectin-Domäne die Sequenzen SEQ ID NO: 1 – 4 umfaßt oder Teile davon.

20

29. Verfahren nach Anspruch 26, dadurch gekennzeichnet, daß die Antwort bzw. die Kontrollantwort die Proliferation der Zellen an Oberflächen umfaßt, die mit der ED<sub>b</sub>-Fibronectin-Domäne oder Teilen davon beschichtet sind.

25

30. Verfahren nach Anspruch 26, dadurch gekennzeichnet, daß die Antwort bzw. die Kontrollantwort die Proliferation, Migration und Differenzierung von Endothelzellen in einer Collagenmatrix umfaßt, die mit der ED<sub>b</sub> - Fibronectin-Domäne oder Teilen davon versetzt wird.

30

31. Verfahren nach einem der Ansprüche 26 – 30, wobei die Verbindungen ausgewählt sind aus der Gruppe, die Antikörper, artifizielle Antikörper, Antikörperfragmente, Peptide, niedermolekulare Verbindungen, Aptamere und Spiegelmere umfaßt.
32. Verfahren nach Anspruch 31, dadurch gekennzeichnet, daß die Antikörper rekombinante Antikörper sind.

33. Verfahren nach Anspruch 31, dadurch gekennzeichnet, daß die Antikörper ausgewählt sind aus der Gruppe, die scFv und Fragmente davon umfaßt.

34. Verfahren zum Screenen auf Verbindungen, die an die ED<sub>b</sub> - Fibronectin-Domäne binden, wobei das Verfahren umfaßt:

a) In Kontakt-Bringen von Zellen mit einer festgelegten Konzentration eines Proteins, das die ED<sub>b</sub> - Fibronectin-Domäne oder ein Protein mit einer der in SEQ ID NO:1 – 4 dargestellten Sequenzen umfaßt, in der Anwesenheit verschiedener Konzentrationen von einer oder mehrerer Verbindungen; und

b) Nachweisen von Unterschieden in der Antwort der Zellen auf das Protein, das die ED<sub>b</sub>-Fibronectin-Domäne oder ein Protein mit einer der in SEQ ID NO: 1-4 dargestellten Sequenzen umfaßt, in der Anwesenheit der Verbindungen im Vergleich mit der Kontrollantwort der Zellen auf das Protein, das die ED<sub>b</sub>-Fibronectin-Domäne oder ein Protein mit einer der in SEQ ID NO: 1-4 dargestellten Sequenzen umfaßt, in der Abwesenheit dieser Verbindungen, wobei

die Zellen ein Protein nach einem der Ansprüche 1 – 10 exprimieren oder

eine Nukleinsäure, die für dieses Protein codiert, umfassen,

und wobei die Antwort bzw. die Kontrollantwort durch einen Rezeptor der ED<sub>b</sub>-Fibronectin-Domäne vermittelt wird.

35. Verfahren nach Anspruch 34, wobei die Antwort bzw. die Kontrollantwort das Anhaften der Zellen an Oberflächen umfaßt, die mit der ED<sub>b</sub> - Fibronectin-Domäne oder Teilen davon beschichtet sind.

36. Verfahren nach Anspruch 34, dadurch gekennzeichnet, daß die Antwort bzw. die Kontrollantwort die Proliferation der Zellen an Oberflächen umfaßt, die mit der ED<sub>b</sub>-Fibronectin-Domäne oder Teilen davon beschichtet sind.
- 5 37. Verfahren nach Anspruch 34, dadurch gekennzeichnet, daß die Antwort bzw. die Kontrollantwort die Proliferation, Migration und Differenzierung von Endothelzellen in einer Collagenmatrix umfaßt, die mit der ED<sub>b</sub>-Fibronectin-Domäne oder Teilen davon versetzt wird.
- 10 38. Verfahren nach einem der Ansprüche 34 – 37, wobei die Verbindungen ausgewählt sind aus der Gruppe, die Antikörper, artifizielle Antikörper, Antikörperfragmente, Peptide, niedermolekulare Substanzen, Aptamere und Spiegelmere umfaßt.
- 15 39. Verwendung einer Nukleinsäure, die für ein Protein codiert, das eine Sequenz umfaßt, die ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ ID NO: 1 - 4 umfaßt, zum Screenen auf Verbindungen, die an einen Rezeptor der ED<sub>b</sub>-Fibronectin-Domäne oder die ED<sub>b</sub>-Fibronectin-Domäne binden.
- 20 40. Verwendung eines Proteins nach einem der Ansprüche 1 – 10 bzw. eines Antikörpers nach einem der Ansprüche 17 – 22 zum Screenen auf Verbindungen, die an einen Rezeptor der ED<sub>b</sub>-Fibronectin-Domäne oder die ED<sub>b</sub>-Fibronectin-Domäne binden.
- 25 41. Verwendung einer Zelle nach einem der Ansprüche 23 – 24, zum Screenen auf Verbindungen, die an einen Rezeptor der ED<sub>b</sub>-Fibronectin-Domäne oder die ED<sub>b</sub>-Fibronectin-Domäne binden.
- 30 42. Verwendung einer Nukleinsäure, die für ein Protein codiert, das eine Sequenz umfaßt, die ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ ID NO: 1 - 4 umfaßt, zum Entwickeln von Antikörpern oder scFv-Fusionsproteinen für diagnostische oder therapeutische Zwecke



43. Verwendung eines Proteins nach einem der Ansprüche 1 – 10 zum Entwickeln von Antikörpern oder scFv-Fusionsproteinen für diagnostische oder therapeutische Zwecke.
- 5 44. Verwendung einer Zelle nach einem der Ansprüche 23 – 24 zum Entwickeln von Antikörpern oder scFv-Fusionsproteinen für diagnostische oder therapeutische Zwecke.
- 10 45. Verwendung eines Phagen nach Anspruch 25 zum Entwickeln von Antikörpern oder scFv-Fusionsproteinen für diagnostische oder therapeutische Zwecke.
- 15 46. Verwendung eines Proteins, das eine Sequenz umfaßt, die ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ ID NO: 1 - 4 umfaßt, für eine pro-angiogene Therapie.
47. Verwendung eines Proteins, das eine Sequenz umfaßt, die ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ ID NO: 1 - 4 umfaßt, für diagnostische Zwecke.
- 20 48. Verwendung eines Proteins, das eine Sequenz umfaßt, die ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ ID NO: 1 - 4 umfaßt, in der Gentherapie.
49. Verwendung eines Proteins, das eine Sequenz umfaßt, die ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ ID NO: 1 - 4 umfaßt, zum Beschichten von Oberflächen, an die Endothelzellen binden
- 25 50. Verwendung nach Anspruch 49, dadurch gekennzeichnet, daß das Beschichten in vitro oder in vivo erfolgt.
- 30 51. Verwendung eines Proteins, das eine Sequenz umfaßt, die ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ ID NO: 1 - 4 umfaßt, in Zellkulturen.

52. Verwendung eines Proteins, das eine Sequenz umfaßt, die ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ ID NO: 1 - 4 umfaßt, zusammen mit mindestens einem Transplantat.

5 53. Verwendung nach Anspruch 52, dadurch gekennzeichnet, daß das Transplantat ausgewählt ist aus der Gruppe, die Gefäß(e), Haut, Cornea, Nieren, Leber, Knochenmark, Herz, Lungen, Knochen, Thymus, Dünndarm, Pankreas, andere innere Organe sowie Teile und Zellen davon umfaßt.

10 54. Verwendung eines Proteins, das eine Sequenz umfaßt, die ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ ID NO: 1 - 4 umfaßt, zusammen mit mindestens einem Implantat.

15 55. Verwendung nach Anspruch 54, dadurch gekennzeichnet, daß das Implantat ausgewählt ist aus der Gruppe, die Lungenimplantate, künstliche Herzschrittmacher, künstliche Herzklappen, Gefäßimplantate, Endoprothesen, Schrauben, Schienen, Platten, Drähte, Nägel, Stäbe, künstliche Gelenke, Mammainplantate, künstliche Schädelplatten, künstliche Zähne, Zahnfüllungen und Zahnbrücken umfaßt.

20